

Muzychenko M. M., Zhabys'tka O. D., Tykhomyrov A. O., Shtemenko N. I.
Content of TBA-active products in rat's blood plasma during the Guerin carcinoma development and inhibition

УДК 612.261:577.12

М. М. Музиченко, О. Д. Жабицька, А. О. Тихомиров, Н. І. Штеменко

Дніпропетровський національний університет

КОНЦЕНТРАЦІЯ ТБК-АКТИВНИХ ПРОДУКТІВ У ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ РОЗВИТКУ ТА ГАЛЬМУВАННІ РОСТУ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА

Досліджено вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів при розвитку карциноми Герена Т₈, введенні цис-платину та кластерних сполук ренію з органічними лігандами. Показано, що сполуки ренію мають значний антиоксидантний ефект і змінюють динаміку розвитку пухлини. Зроблено висновок про перспективність використання сполук ренію, які містять кластерний фрагмент і органічні ліганди, для подальших досліджень *in vivo* при зміненому редокс-статусі організму.

Content of TBA-active products in rat's blood plasma was investigated during the Guerin carcinoma development and introduction of cis-platine and cluster Rhenium substances with organic ligands. It was shown that Rhenium substances had essential antioxidant effects and changed the dynamics of a tumor growth. It was drawn the conclusion on importance of further *in vivo* experimental investigations of the Rhenium substances with cluster fragment and organic ligands in an organism of changed redox state.

Вступ

Відомо, що вільні радикали беруть участь у патогенезі біологічних мембран, наслідки якого виявляються у порушенні нормального функціонування клітини та патологіях цілого організму [3; 7]. Інтенсивність перебігу вільнорадикальних процесів у організмі оцінюють за вмістом у плазмі крові ТБК-активних (тіобарбітурова кислота) продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). У численних дослідженнях показано, що при розвитку новоутворень концентрація ТБК-активних продуктів у плазмі та тканинах значно зростає. Наприклад, на 21-у добу розвитку карциноми Ге-

© М. М. Музиченко, О. Д. Жабицька, А. О. Тихомиров, Н. І. Штеменко, 2006

117

рена Т₈ концентрація ТБК-активних продуктів перевищувала норму у печінці та плазмі майже вдвічі [4].

У наших роботах показано, що окремі сполуки ренію з органічними лігандами при введенні значних доз (400 мг/кг) гальмують розвиток карциноми Герена Т₈ [8]. У цих роботах визначено низьку токсичність сполук ренію, наприклад, ЛД₅₀ для кластерної сполуки ренію з ГАМК-лігандами складає 1200 мг/кг. Відома також незначна токсичність солей ренію [12]. В експериментах *in vitro* показана висока антирадикальна активність кластерних сполук ренію, яка проявляється у здатності до гасіння штучного радикала, що за швидкістю досягає відповідних значень природних радикалів [2], та у стабілізації еритроцитарних мембран [5]. В експериментах *in vivo* ці сполуки мають високу антигемолітичну активність [1].

За структурою лігандів досліджувані сполуки ренію подібні до протипухлинних препаратів третьої генерації [6], які не є клітинними отрутами та здатні до подолання хемірезистентності пухлин. Визначення редокс-статусу організму при розвитку новоутворень і застосуванні хімотерапевтичних засобів актуальне насамперед у зв'язку з пошуками можливості подолання набутої резистентності клітин до відомих цитостатиків, з відкриттям механізмів впливу екзогенних речовин на генетично пошкоджені клітини [6; 17], що здійснюється шляхом регуляції клітинного поділу та апоптозу залежно від редокс-статусу клітини та організму.

Мета даної роботи – визначити концентрації ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів як показника інтенсивності ПОЛ при введенні здоровим тваринам і тваринам з імплантованою карциномою Герена Т₈ кластерних сполук ренію з органічними лігандами за схемою антиоксидантної терапії порівняно з цис-платином.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводилися на щурах лінії Вістар масою 100–150 г віком 2 місяці. Суспензія клітин карциноми Герена Т₈ (30 % у фізіологічному розчині) перещеплювалася здоровим щурам від пухлиноносіїв, отриманих в Інституті онкології та радіології ім. Кавецького МОЗ України. Цис-платин і ліпосомні форми кластерних сполук ренію готували в Українському державному хіміко-технологічному університеті на кафедрі неорганічної хімії [10; 11; 15]. Досліджувалися такі кластерні сполуки ренію з органічними лігандами (КРОЛ): $Re_2(i-C_3H_7COO)_4Cl_2$ – *Re 1*; цис- $Re_2(AdCOO)_2Cl_4 \cdot 2CH_3CN$ – *Re 2* (*Ad* – адамантил); цис- $[Re_2(GABA)_2Cl_5]Cl \cdot H_2O$ – *Re 3*.

Цис-платин вводили одноразово у дозі 8 мг/кг на 9-у добу після перещеплення пухлини [19]. Сполуки ренію вводили за схемою антиоксидантної терапії [9], починаючи з 3-ї доби після перещеплення пухлини з інтервалом в одну добу у кількості 3,4 ммоль/кг. На 21-у добу тварин декапітували з використанням анестезії хлороформом, видаляли та зважували пухлину, досліджували вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові [13].

Дослідні тварини були поділені на групи по 15 щурів у кожній:

- 1 – здорові інтактні щури;
- 2 – щури з карциномою Герена Т₈;
- 3 – щури з карциномою Герена Т₈, яким вводили цис-платин;
- 4 – щури з карциномою Герена Т₈, яким вводили *Re 1*;
- 5 – щури з карциномою Герена Т₈, яким вводили *Re 2*;
- 6 – щури з карциномою Герена Т₈, яким вводили *Re 3*.

Результати обробляли статистично з використанням *t*-критерію Стюдента. Зміни показників вважалися достовірними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Карцинома Герена T_8 розвивається швидко, на 21-у добу після імплантації її розмір досягає у середньому 30 % ваги тварини. Введення цис-платину призводило до значного гальмування росту пухлини. На 21-у добу вона становила у середньому 5 % ваги щура, тобто зменшувалася у середньому на 25 %. Спостерігалась смертність тварин у групі № 2 – 33 %, у групі № 3 – 25 %, у групі № 5 – 17 %. У групах № 1, 4, 6 не спостерігалось смертності та змін у поведінці тварин упродовж усього експерименту.

Динаміка розвитку пухлини під впливом КРОЛ змінюється та відрізняється від такої при гальмуванні цис-платином (табл.). На відміну від цис-платину, КРОЛ не гальмує розвиток пухлини на його кінцевому етапі. Для впливу КРОЛ на розвиток новоутворення характерний ріст пухлини, подібний до контрольної групи, але з меншою швидкістю.

Таблиця

**Розміри пухлин на трьох стадіях розвитку
(у % до розмірів пухлин на 21-у добу відносно групи № 2)**

Дослідна група	Стадії розвитку пухлини		
	I (10–13-а доба)	II (13–17-а доба)	III (17–21-а доба)
2-а	10–50	30–70	60–100
3-я	4–5	15–30	5–35
4-а	5–10	15–25	80–97
5-а	5–10	20–35	60–70
6-а	5–10	20–40	97–98

Для КРОЛ характерна наступна залежність: при зниженні їх концентрації біологічна активність збільшується [5]. Таку ж концентраційну залежність спостерігали для препарату нуклеоплату при взаємодії з деякими клітинами. Це явище вивчене недостатньо [14]; воно може пояснюватися дією речовини на різні рівні складної регуляції клітин, при якій реакція на слабкі та сильні впливи здійснюється різними механізмами та шляхами. Ми зустрічали таке явище при взаємодії КРОЛ з еритроцитами [5], коли при зміні концентрацій КРОЛ ефект стабілізації клітин до гемолізу мав парадоксальну концентраційну залежність і в деяких випадках змінювався на протилежний.

У групі № 2, де щури з трансплантованою карциномою Герена T_8 не підлягали впливу будь-яких речовин, спостерігалось значне підвищення концентрації ТБК-активних продуктів (у 5,5 раза), що свідчить про інтенсифікацію процесу ПОЛ та виснаження системи антиоксидантного захисту (АОЗ) (рис.).

Введення цис-платину щурам із карциномою Герена T_8 (група № 3) призводило до зниження вмісту ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів удвічі, проте перевищувало значення норми (здорові щури) втричі. Це спостереження, безумовно, може бути пояснене впливом цис-платину на гальмування росту пухлини, яка в цьому експерименті – головний фактор інтенсифікації ПОЛ.

При введенні кластерних сполук ренію відбувається зниження рівня ТБК-активних продуктів утричі для *Re 3* порівняно з групою № 2. Для *Re 1* і *Re 2* такий ефект не спостерігався. Отже, деякі сполуки ренію проявляють антиоксидантні властивості у даному експерименті. Як показано у наших попередніх роботах [2], почверний зв'язок у структурі КРОЛ може виконувати роль «пастки» для радикалів і, таким чином, виконувати функцію гасіння процесу ПОЛ.

Відсутність впливу КРОЛ у розчинах і в ліпосомних формах на стан нормальних еритроцитів та їхні стабілізуючі властивості щодо старіючих еритроцитів пояснювалася ефективністю зв'язування КРОЛ із клітиною залежно від складу мембран-

них ліпідів [18]. Здатність до прояву антиоксидантних властивостей саме у процесах, що супроводжуються інтенсивним ПОЛ, поряд із низькою токсичністю, а також спроможність до гальмування росту новоутворень на деяких стадіях розвитку робить КРОЛ сполуками, що можуть бути модуляторами дії токсичних цитостатиків [17].

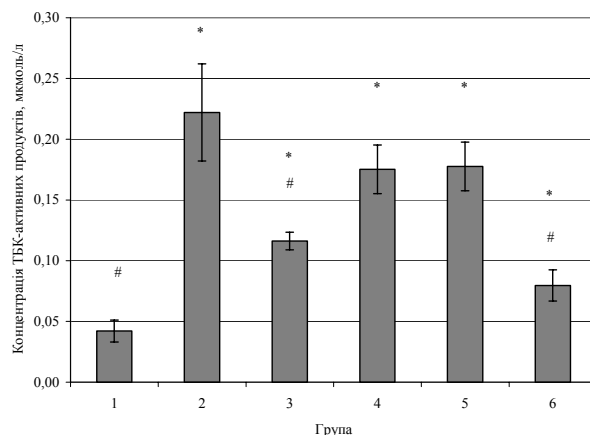


Рис. Концентрація ТБК-активних продуктів (мкмоль/л) у плазмі крові щурів з карциною Герена Т₈ за дії комплексів ренію з органічними лігандами:

1 – здорові інтактні щури; 2 – щури з карциною Герена Т₈; 3 – щури з карциною Герена Т₈, яким вводили цис-платину; 4 – щури з карциною Герена Т₈, яким вводили *Re 1*; 5 – щури з карциною Герена Т₈, яким вводили *Re 2*; 6 – щури з карциною Герена Т₈, яким вводили *Re 3*; * – достовірність різниці порівняно з групою 1; # – достовірність різниці порівняно з групою 2.

Вміст ТБК-активних продуктів в умовах впливу *Re 3* нижчий, ніж при введенні цис-платину, приблизно у 1,5 раза. Як антиоксидант *Re 3* – найбільш ефективний серед застосованих КРОЛ, що, в свою чергу, привертає увагу до структури радикала (гамма-аміномасляної кислоти). На нашу думку, отримані дані свідчать про значний внесок цієї частини молекули до корекції патологічного стану, а саме, про залучення додаткових механізмів стабілізації, не пов'язаних із почверним зв'язком і обумовлених наявністю амінокислотного залишку.

Цей факт відкриває перспективи синтезу нових КРОЛ із залученням інших біологічно активних лігандів, наприклад, пептидів. На сьогодні відомий препарат – глутоксим, структура якого включає залишки гамма-аміномасляної кислоти, який здійснює позитивний комплекс ефектів на нормальні клітини організму, з одного боку, а з іншого – ініціює процес елімінації генетично дефектних (пухлинних, ушкоджених вірусом) клітин шляхом включення регуляторних реакцій апоптозу.

Висновок

При введенні кластерних сполук ренію з органічними лігандами щурам із карциною Герена Т₈ знижується інтенсивність пероксидного стресу, змінюється динаміка росту пухлини. Кластерні сполуки ренію з органічними лігандами перспективні для подальших досліджень *in vivo* у експериментах з інтенсивним процесом перекисного окиснення ліпідів. Вони відкривають можливість синтезу нових металоорганічних сполук із різноманітним спектром біологічної активності.

Бібліографічні посилання

1. **Антигемолітична активність** кластерних комплексів ренію з органічними лігандами / Н. І. Штеменко, С. А. Олійник, О. В. Штеменко та ін. // Доповіді НАНУ. – 2001. – № 6. – С. 194–197.

2. **Антирадикальна активність** кластерних комплексів ренію з органічними лігандами / С. А. Олійник, Н. І. Штеменко, О. В. Штеменко та ін. // Доповіді НАНУ. – 2001. – № 7. – С. 176–180.
3. **Барабой В. А.** Окислительно-окислительный гомеостаз в норме и патологии / В. А. Барабой, Д. А. Сутковой. – К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. – 204 с.
4. **Влияние** субтерапевтических доз доцетаксела (таксотера) на эффективность радиотерапии и проокислительно-антиокислительный баланс у крыс с карциномой Герена / В. П. Старенький, Л. Я. Васильев, Ю. В. Никитченко и др. // Радиационная биология. Радиозология. – 2003. – Т. 43, № 6. – С. 640–645.
5. **Изучение влияния** комплексов рения с органическими лигандами на кислотно-резистентность эритроцитов человека / Н. И. Штеменко, И. В. Пирожкова-Паталах, А. В. Штеменко та ін. // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т. 72, № 3. – С. 77–81.
6. **Лечение** неоперабельных опухолей органов брюшной полости / С. А. Шалимов, Л. В. Кейсевич, А. А. Литвиненко и др. – К.: Пресса Украины, 1998. – 256 с.
7. **Никифорова Н. В.** Антиоксиданты в злокачественных опухолях человека и экспериментальных животных / Н. В. Никифорова, А. Е. Берман // Биомедицинская химия. – 2003. – Т. 49, № 3. – С. 250–262.
8. **Пирожкова-Паталах І. В.** Антиоксидантна та антиканцерогенна активність кластерних сполук ренію. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Харків: Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна, 2001. – 20 с.
9. **Предупреждение** повреждения миокарда при гемолитической анемии с помощью антиоксидантов / Ф. З. Меерсон, А. Б. Сухомлинов, М. Е. Евсеева и др. // Кардиология. – 1983. – Т. 23, № 6. – С. 94–99.
10. **Синтез и свойства** цис-тетрагалогено-ди-μ-карбоксилатных производных дирения (III) с адамантанкарбоновыми кислотами / А. В. Штеменко, А. А. Голиченко, И. Семенова, Я. С. Вербицкая // Вопр. химии и хим. техн. – 2001. – № 4. – С. 31–34.
11. **Спектрофотометричне дослідження** взаємодії комплексних сполук ренію з фосфатидилхоліном за формування ліпосом / О. В. Штеменко, М. А. Зеленюк, Н. І. Штеменко та ін. // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, № 6. – С. 38–43.
12. **Токсикологія** сполук ренію: погляд на проблему / С. А. Олійник, Н. І. Штеменко, Н. О. Горчакова та ін. // Современные проблемы токсикологии. – 2001. – № 1. – С. 11–15.
13. **Чевари С.** Определение антиокислительных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрэнгер // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9–13.
14. **Штеменко Н. І.** Вивчення впливу ліпідної складової ліпосом на стійкість еритроцитів / Н. І. Штеменко, М. А. Зеленюк, О. В. Штеменко // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2004. – Вип. 12, т. 1. – С. 195–199.
15. **Штеменко О. В.** Синтез биядерных кластеров рения (III) с аминокислотами / О. В. Штеменко, Б. О. Бовикин, О. В. Кожура // Укр. хім. журн. – 1997. – Т. 63, № 11. – С. 35–38.
16. **Эффективность** сверхмалых доз противоопухолевых вакцин в эксперименте / Г. П. Потенба, Г. С. Лисовенко, В. А. Семерников и др. // Наукові основи розробки лікарських препаратів. – Харків: Основа, 1998. – С. 475–481.
17. **Fuertes M. A.** Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: enhancement of anti-tumor activity and circumvention of drug resistance / M. A. Fuertes, C. Alonso, J. M. Perez // JACS. Chemical Reviews. – 2002. – P. 17.2. A-R. – P. 245–256.
18. **Kozhemyakin L.** Glutoxin, disulphidecontaining hexapeptides ensured a favorable survival outcome and better tolerability of chemotherapy in patients with stage III-IV non-small-cell lung cancer / L. Kozhemyakin, A. Smirnov, S. Orlov // 4th International congress on lung cancer. Abstracts Book. – Halkidiki, Greece, 2000. – P. 72–76.
19. **Taylor S. K.** Is recombinant human erythropoietin (rh-epo) more than just a treatment of anemia in cancer and chemotherapy // Medical Hypothesis. – 2003. – Т. 60, № 1. – P. 89–93.

Надійшла до редколегії 03.01.06.